

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN**

## **CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA CON ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**



## **EFFECTO ANTICOAGULANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Allium sativum* “AJO” SOBRE LA CASCADA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA**

### **TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**Autores** : Bach. Marcos Coronel Tapia  
Bach. Elzer Berru Flores

**Asesora** : Dra. Luz Azucena Torres García

**JAÉN – PERÚ, JULIO, 2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN**

**CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA CON  
ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA  
PATOLÓGICA**



**EFFECTO ANTICOAGULANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE *Allium sativum* “AJO” SOBRE LA CASCADA  
DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
LICENCIADO TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO  
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**Autores : Bach. Marcos Coronel Tapia  
Bach. Elzer Berru Flores**

**Asesora : Dra. Luz Azucena Torres García**

**JAÉN – PERÚ, JULIO, 2019**



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

Universidad Licenciada con Resolución del Consejo Directivo N° 002-2018-SUNEDU/CD

## ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Jaén, el día miércoles 10 de Julio del año 2019, siendo las... 12:21 ... horas, se reunieron los integrantes del Jurado:

Presidente: Dr. Luis Omar Carbajal García

Secretario: Dra. Irma Rumela Aguirre Zaquinaula

Vocal: Mg. Wagner Colmenares Mayanga, para evaluar la Sustentación del Informe Final:

- ( ) Trabajo de Investigación  
( X ) Tesis  
( ) Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulado: "EFECTO ANTICOAGULANTE IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *ALLIUM SATIVUM* "AJO" SOBRE LA CASCADA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA", presentado por los Bachilleres Coronel Tapia Marcos y Berru Flores Elzer, de la Carrera Profesional de Tecnología Médica con especialidad en Laboratorio Clínico.


Después de la sustentación y defensa, el Jurado acuerda:


- ( X ) Aprobar ( ) Desaprobar ( X ) Unanimidad ( ) Mayoría

Con la siguiente mención:

- |                |            |               |
|----------------|------------|---------------|
| a) Excelente   | 18, 19, 20 | ( )           |
| b) Muy bueno   | 16, 17     | ( )           |
| c) Bueno       | 14, 15     | ( <u>14</u> ) |
| d) Regular     | 13         | ( )           |
| e) Desaprobado | 12 ó menos | ( )           |

Siendo las ... 18:30 ... horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.

  
Dr. Luis Omar Carbajal García  
Presidente Jurado Evaluador

  
Dra. Irma Rumela Aguirre Zaquinaula  
Secretario Jurado Evaluador

  
Mg. Wagner Colmenares Mayanga  
Vocal Jurado Evaluador

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>vi</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS .....</b>	<b>6</b>
2.1    Objetivo General .....	6
2.2    Objetivos Específicos .....	6
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>7</b>
3.1    Tipo de estudio.....	7
3.2    Diseño de estudio.....	7
3.3    Muestra vegetal.....	8
3.4    Muestra biológica .....	9
3.5    Procedimiento experimental .....	11
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>16</b>
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
<b>VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>23</b>
5.1    Conclusiones.....	23
5.2    Recomendaciones .....	24
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>25</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>28</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>29</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>30</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Volúmenes a diferentes concentraciones de extracto de <i>Allium sativum</i> “ajo”..	<b>16</b>
<b>Tabla 2.</b> Valores de Tiempo de Protrombina (TP) y tiempo promedio.....	<b>17</b>
<b>Tabla 3.</b> Valores de Tiempo Parcial de Tomboplastina activada (TTPa) y tiempo promedio.....	<b>18</b>
<b>Tabla 4.</b> Análisis de Varianza y Prueba de Tukey para el efecto de las concentraciones del extracto de <i>Allium sativum</i> sobre el TP.....	<b>19</b>
<b>Tabla 5:</b> Análisis de Varianza y Prueba de Tukey para el efecto de las concentraciones del extracto de <i>Allium sativum</i> sobre el TTPa.....	<b>20</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Lugar de recolección de la muestra.....	<b>8</b>
<b>Figura 2.</b> Bulbos de <i>Allium sativum</i> “Ajo” .....	<b>9</b>
<b>Figura 3.</b> Coágulo sanguíneo.....	<b>10</b>

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto anticoagulante *in vitro* del extracto de *Allium sativum* “ajo” sobre la cascada de la coagulación sanguínea. Se realizó un diseño experimental con ensayos en laboratorio, la muestra se identificó taxonómicamente por un experto en Botánica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se obtuvo el extracto y se prepararon diferentes concentraciones del mismo en solución salina fisiológica. Se obtuvo plasma citratado de 05 donantes voluntarios. Para la determinación del efecto anticoagulante, la muestra de plasma de cada individuo se dividió en siete tubos, siendo el tubo 1 utilizado para determinar el tiempo normal de Tiempo de Protrombina (TP) y Tromboplastina Parcial activada (TTPa) (grupo control), el tubo 2 se ensayó para comprobar si la solución salina fisiológica altera las pruebas de coagulación (grupo blanco) y otros cinco tubos que incluye volúmenes de extractos de *Allium sativum* “ajo” a diferentes concentraciones (100%, 75%, 50%, 25%, 12.5%). Los participantes de estudio tuvieron tiempos promedio de Protrombina y Tromboplastina parcial activada normales (12.5 y 37.26 seg. respectivamente), el estímulo con extracto al 100% obtuvo un Tiempo de Protrombina (TP) 111.56 segundos y Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa) 143.18 segundos, siendo significativamente mayor que las otras concentraciones y el control, concluyendo que el extracto de ajo posee efecto anticoagulante siendo dicha efectividad dosis- dependiente de la concentración utilizada.

**Palabras clave:** Enfermedades cardiovasculares, efecto anticoagulante, *Allium sativum*, (ajo), pruebas de coagulación (TP, TTPa).

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the in vitro anticoagulant effect of *Allium sativum* extract "ajo" on the cascade of blood coagulation. An experimental design was made with tests in the laboratory, the sample was identified in a taxonomic manner by a botanist at the National University of San Marcos, the extract was obtained and prepared for the same response. Citrated plasma was obtained from 05 voluntary donors. For the determination of the anticoagulant effect, each person's plasma sample is divided into seven tubes, with tube 1 being the normal prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) (control group), tube 2 being tested for the physiological saline solution alters the coagulation tests (white group) and five others that include the extracts of *Allium sativum* "garlic" to different enrollees (100%, 75%, 50%, 25%, 12.5%). The participants of the study had an average duration of prothrombin and activated partial thromboplastin normal (12.5 and 37.26 sec Respectively), the stimulus with 100% extract obtained a Prothrombin Time (TP) 111.56 seconds and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) 143.18 seconds, although it has been greater than the other activities and control, concluding that the garlic extract has an anticoagulant effect.

**Key words:** cardiovascular diseases, anticoagulant effect, *Allium sativum*, (garlic), coagulation tests (TP, aPTT).



## **I. INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) lideran las causas de muerte en el mundo, especialmente en los países desarrollados y en vías de desarrollo (1). En el Perú, las enfermedades cardiovasculares se encuentran entre las tres primeras causas de mortalidad, según lo indica el Ministerio de Salud (2). La complejidad de estos trastornos y la falta de drogas efectivas contribuyen a que muchas de estas enfermedades no sean resueltas de manera eficaz.

La causa más frecuente de las ECV son las trombosis, accidentes cerebrovasculares, ataques al corazón y la hipertensión (3). Debido a ello, en los últimos años para la prevención de ECV se ha incrementado considerablemente la utilización de anticoagulantes orales (4), es así que a los profesionales de la salud y más aún a los Tecnólogos Médicos nos toca contribuir con nuestros conocimientos científicos de apoyar en el descubrimiento de anticoagulantes naturales para combatir problemas de salud humana como son las trombosis, que están relacionadas directamente con el corazón, el cerebro y extremidades.

Los anticoagulantes orales (5). (heparina, aspirina, Clopidogrel, Abciximab) son medicamentos que actúan para prevenir la formación de coágulos en la sangre, el engrosamiento de un coagulo existente, no los disuelven pero interfieren en la cascada de la coagulación, incluyen en este grupo a las heparinas y los anticoagulantes orales como la acenocumarina, ácido acetil salicílico (aspirina), clopidogrel, entre otros (6). Sin embargo, aún no existe algo exacto que garantice la totalidad del éxito de dichos esquemas de terapia por los efectos secundarios que presentan, de tal forma que, como alternativa de solución a este problema, se podría encontrar en los recursos naturales como las plantas.

Como señala Arteche et al (7), en los últimos 30 años se han realizado numerosos estudios, sobre las propiedades farmacológicas del ajo: antioxidante, hipolipemiente, antiaterogénica, antitrombótica, hipotensora, antimicrobiana, antifúngica, anticarcinogénica, propiedades que se le atribuyen principalmente a su componente azufrados (alicina).

Algunos trabajos han ensayado, probado y mostrado el efecto anticoagulante de diversas plantas, entre ellas, *Allium cepa* “cebolla” (8), *Allium Sativum*. “ajo” y *Zingiber officinale* R. “Jengibre” (9); al respecto, Zarzosa et al (10), demostraron que los zumos de cebolla, uva, *Carica papaya* “papaya” y *Ananas comosus* “piña” tienen un efecto anticoagulante *in vitro e in vivo*.

Existen fármacos comercializados con efectos adversos severos si se los utiliza a largo plazo, pudiendo desarrollarse hemorragias, osteoporosis, trombocitopenia y trombosis cutánea, el cual constituye un riesgo en la salud de los pacientes que sufren alguna de estas patologías cardiovasculares (11).

El ajo posee entre sus componentes fitoquímicos a la Alicina siendo el compuesto biológico más activo y estudiado como anticoagulante (12) , nace la interrogante de comprobar si pudiera intervenir en la coagulación sanguínea, ya sea retardando sus parámetros normales o interactuando con alguna de las proteínas que allí participan.

Actualmente muchas de las investigaciones se enfocan en investigar los recursos naturales que presentan principios activos que pueden ser aprovechados de manera sostenible como anticoagulantes naturales, tales como el de *Allium sativum* “ajo”, objeto del presente estudio, siendo principalmente de mucha importancia para pacientes con enfermedades coronarias y trombóticas, además de que el costo es reducido, siendo necesario estudios experimentales para comprobar la concentración óptima y forma de preparación de los recursos naturales en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Un estudio realizado en el año 2018 en la Universidad Nacional San Agustín, Arequipa, hace referencia a la determinación anticoagulante de los extractos. *Allium cepa* L., demostrando como resultados el *Allium cepa* L. incrementa significativamente el tiempo de Protrombina, INR y Tiempo de Tromboplastina activada tanto en pacientes sanos como los que reciben medicación con warfarina, en ambos casos se incrementa a niveles altamente peligrosos para la salud. Así mismo indican que *Zingiber officinale* Rosc. (Jengibre) incrementa el tiempo de Protrombina, INR y Tiempo de Tromboplastina activada en pacientes que reciben medicación con warfarina incrementando los valores llevándolos al límite superior permitido. Mientras que *Allium sativum* L. incrementa el tiempo de Protrombina, INR y Tiempo de Tromboplastina activada pero no significativamente para pacientes sanos y que reciben medicación con warfarina (13).

Villalta V, et al en su trabajo de investigación realizó un estudio experimental analítico transversal. Éste trabajo tuvo como objetivo: Evaluar el efecto anticoagulante in vitro del extracto etanólico del rizoma de *Cúrcuma longa* L. Las participantes del estudio tuvieron 22.93 años con tiempos de coagulación normales (5.23 minutos), el estímulo con extracto etanólico al 100% obtuvo un tiempo de coagulación de  $89.18 \pm 14.81$  minutos. Concluyendo que el extracto etanólico del rizoma de *Cúrcuma longa* L. “palillo” posee efecto anticoagulante in vitro sobre muestras sanguíneas de mujeres jóvenes sanas (14).

Zarsosa- N, et al, (10) en su estudio sobre el efecto de zumo de frutas y hortalizas peruanas sobre el sistema de la coagulación comprobó el efecto anticoagulante in vitro e in vivo de frutas y hortalizas peruanas. Realizó un estudio in vitro con plasma humano e in vivo administrando el zumo vía oral a ratas por catorce días. La actividad anticoagulante fue evaluada midiendo el Tiempo de Protrombina (TP) y el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPa), además determino el fibrinógeno. Concluyeron in vitro e in vivo los zumos de *Citrus Limonun* (limón), *Carica papaya* (papaya) y *Allium cepa* (cebolla) tienen efecto anticoagulante. Los zumos de *Allium sativum* (ajo) y *Zingiber officinale* (jengibre), tienen este efecto solo in vitro.

Díaz P. determinó el efecto antiagregante plaquetario *in vivo* y fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* (chupasangre), realizaron un estudio experimental, demostrando el efecto antiagregante plaquetario y fibrinolítico *in vitro* al lizar los coágulos formados en sangre de 10 donantes voluntarios sanos, con el extracto etanólico de *Oenothera rosea* a la concentración de 5,8 mg/ml (15).

Un estudio realizado en Cuba titulado: “Investigaciones actuales del empleo de *Allium sativum* en medicina”, realizaron una revisión bibliográfica empleando los recursos disponibles en la red Infomed, específicamente Ebsco, PubMed, Hinari y Scielo, concluyendo que el ajo posee múltiples efectos beneficiosos, tales como: antimicrobiano, hipolipidémico, antitrombótico, antihipertensivo, debido a sus compuestos sulfurados, principalmente alicina y ajoene, existiendo evidencias científicas que avalan su uso en medicina (16).

Narjis H, en su investigación sobre el efecto anticoagulante de los extractos de cebolla roja, aceite de ajo y aceite de uva, se examinaron muestras de sangre de individuos normales mediante la medición del tiempo de protrombina (TP). La muestra de plasma de cada individuo se dividió en cuatro grupos. Grupo 1. TP normal (grupo control positivo), otros tres grupos que incluye tres volúmenes de extractos de plantas (25, 50 y 75 mg /l) se añadieron por separado a las muestras de plasma. Los resultados mostraron diferencia significativa para las tres muestras a diferentes concentraciones comparados con el control. (17).

Otro estudio realizado en Polonia: “Efecto anticoagulante de extractos ricos en polifenoles de chokeberry negro y semillas de uva”. Sus experimentos *in vitro* mostraron que ambos extractos (0,5; 5; 50 mg/ml) prolongaban el tiempo de coagulación y disminuían la velocidad máxima de la polimerización de fibrina en plasma humano. Además, la incubación de la trombina con ambos extractos da como resultado la inhibición de la actividad amidolítica de esta enzima. Dando esperanzas para el desarrollo de suplementos dietéticos, que pueden prevenir la trombosis en estados patológicos (18).

Un artículo publicado por Espinoza C. (19) : “Mecanismos de acción antiplaquetaria del tomate. El objetivo de esta memoria fue investigar en la literatura científica internacional respecto a los posibles mecanismos de acción antiplaquetaria del tomate. Concluyeron que: El consumo regular de tomates presenta efectos: antioxidantes, hipolipemiantes y antiagregante plaquetario Dentro de los hallazgos encontrados cabe destacar la importancia del licopeno en la prevención de las ECV, sin embargo, existen otras moléculas con propiedades antiplaquetarios.

La presente investigación beneficiará a la población que sufren problemas de coagulación como trombosis arteriales, coronarias y cerebrales y de esta manera se prevendrían diversas reacciones adversas medicamentosas.

Académicamente el proyecto nos cubre el cumplimiento de créditos para la finalización de la carrera conteniendo todos los conocimientos y capacidades que se ha ido desarrollando y poderlos aplicar en investigaciones de plantas naturales con actividad anticoagulante

En nuestro país existe una variedad de plantas con aplicaciones terapéuticas, entre ellas el *Allium sativum* “ajo”, la cual posee nuestro departamento, Cajamarca, y no existiendo información científica local que sustente el uso de dicha planta como anticoagulante; es nuestro interés determinar su efecto anticoagulante, para lo cual nos planteamos la siguiente interrogante:¿Cuál es el efecto anticoagulante *in vitro* el extracto de *Allium sativum* “ajo” sobre la cascada de la coagulación sanguínea?

En nuestro país existen pocos estudios de su efecto anticoagulante, es por lo que decidimos iniciar esta investigación trazándonos como objetivo, evaluar el efecto anticoagulante *in vitro* del extracto de *Allium sativum* “ajo”, como un estudio preliminar, a fin de que pueda ser estudiado como una opción de tratamiento seguro y efectiva con mínimos efectos adversos, a diferencia de los anticoagulantes orales.

## II. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto anticoagulante *in vitro* del extracto de *Allium sativum* “ajo” sobre la cascada de la coagulación sanguínea.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extraer el extracto de *Allium sativum* "ajo" a diferentes diluciones del mismo en solución salina fisiológica.
- Determinar cuantitativamente el Tiempo de Protrombina (TP) *in-vitro* según una técnica semiautomatizada en las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* “ajo”.
- Determinar cuantitativamente el Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (TTPa) *in-vitro* según una técnica semiautomatizada en las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* “ajo”.

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1 TIPO DE ESTUDIO**

**Experimental.** Porque existirá manipulación deliberada de variables, con el fin de investigar las posibles relaciones causa-efecto, el investigador controla la acción de una variable sobre otra.

**In vitro.** La investigación se realizará en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

#### **3.2 DISEÑO DE ESTUDIO**

Es una investigación de diseño experimental, en donde se revisó la bibliografía relacionada con el efecto anticoagulante del ajo y se experimentó en el laboratorio manipulando las variables y realizando un control directo de las diferentes concentraciones del ajo que posiblemente afecten a la actividad biológica que se mide, que en este caso es la efectividad del ajo; los resultados fueron comparados con un valor control (el cual consistió en medir los tiempos de coagulación normales) permitiendo así comprobar o descartar la hipótesis planteada (20)

El enfoque es cuantitativo debido a que se cuantificó la relación de las variables, que en este caso es el efecto anticoagulante como variable dependiente y el extracto acuoso como variable independiente. Además ésta investigación se basó en la observación sistemática de hechos sensibles, comprobación y experiencia, para de esta forma obtener resultados que puedan ser repetidos y medibles estadísticamente (20).

El nivel de investigación es explicativo, ya que se tuvo como finalidad describir el fenómeno en estudio, siendo este el efecto anticoagulante de *Allium sativum* (ajo), explicando el comportamiento de sus variables, mediante leyes científicas o teorías (20).

### 3.3 Muestra vegetal

Se utilizó bulbos de ajo, a la cual se le procesó en extracto y se diluyó a diferentes concentraciones.



**Figura 1.** Ubicación Geográfica de Salique, Jaén, Cajamarca, Altitud: 1658 msnm, Latitud: 05°39'25" Sur. Longitud: 79°18'54" Oeste. Superficie: 373.89 Km<sup>2</sup>



### **Criterios de Inclusión**

Hortalizas en buen estado, fresco, bulbo de ajo sin rastros de plagas, bulbo de ajo con buen tamaño y dureza.

### **Criterios de Exclusión**

Bulbos de ajo en mal estado, bulbo de ajo con rastros de plagas, bulbo de ajos pequeños y golpeados.



**Figura 2.** Bulbos de ajo.

### **3.4 Muestra biológica**

Se utilizaron muestras de sangre venosa periférica extraídas de 5 donantes voluntarios, las que posteriormente serán centrifugadas y el plasma obtenido servirá para la medición de las pruebas respectivas (TTPa y TP). La selección de los donantes se realizó tomando en cuenta los criterios de inclusión para la presente investigación mediante la ficha de encuesta para selección de donantes (Ver anexo 06).



**Figura 3.** Coágulo sanguíneo (21).

### **Criterios de Inclusión**

Personas adultas de ambos sexos, clínicamente sanos, sin signos evidentes de algún padecimiento.

Personas que no hayan recibido tratamiento farmacológico en los últimos 3 meses y/o otra sustancia que interfiera con los procesos de coagulación normales (aspirinas, anticonceptivos orales, anticoagulantes, etc.)

Mujeres que no se encuentren gestando o con sospecha de embarazo

Individuos con pruebas de coagulación dentro de los rangos de referencia.

### **Criterios de Exclusión**

Personas que padezcan de trastornos de la coagulación o con antecedentes del mismo o algún otro padecimiento y que muestren signos evidentes de alguna patología.

Personas que hayan recibido tratamiento farmacológico y/o otra sustancia que interfiera con el proceso normal de coagulación en los últimos 3 meses.

Mujeres en estado de gestación o con sospecha de embarazo.

### **3.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

#### **3.5.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE *ALLIUM SATIVUM* “AJO”.**

La muestra vegetal, 150 gramos de bulbo de ajo, fueron limpiados, retirando impurezas, pelados y lavados con abundante agua, se procedió a la trituration, con un mortero para lograr la ruptura de mayor cantidad de células del ajo con el propósito de que la aliina se libere de la vacuola y entre en contacto con la enzima alicinasa que se encuentra en el citosol para que estas dos sustancias puedan reaccionar y formar el compuesto activo con propiedades biológicas que es la alicina (22)

Luego, el ajo triturado en forma de pasta, se filtró utilizando Whatman N° 4(20-25)  $\mu\text{m}$ , el extracto recogido fue de 3 ml. Este extracto fue considerado como 100% (23) y se preparó una solución acuosa con solución salina fisiológica a diferentes concentraciones (75%, 50%, 25%, 12.5%) esto con la finalidad de comprobar si este efecto anticoagulante es dosis-dependiente.

Para calcular las diferentes concentraciones del extracto, se utilizó la siguiente expresión:

$$C_1 \times V_2 = C_2 \times V_1$$

**Dónde:**

$C_1$  = Concentración inicial del extracto acuoso

$V_1$  = Volumen deseado del extracto acuoso

$C_2$  = Concentración deseada del extracto acuoso

$V_2$  = Volumen total de la solución

### **3.5.2. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA BIOLÓGICA.**

Se identificó al paciente y se le pidió que firme la hoja de consentimiento informado (**anexo 02**) para la toma y procesamiento de muestra.

Se extraerán muestras de sangre venosa periférica de 05 donantes voluntarios con tiempos de coagulación dentro del rango normal (24) utilizando para esto, tubos de 4.5 ml (Vacutainer®) conteniendo Citrato de Sodio al 3,2% para la anticoagulación, según la técnicas de hematología del INS-MINSA (25) , de la siguiente manera:

Se limpiará la zona elegida con alcohol al 70%, en un área de 2 pulgadas. Se retira el estuche protector de la aguja y éste se enrosca al dispositivo para extracción de sangre al vacío.

Seguidamente se coloca la ligadura cuatro dedos por encima de la flexión del codo y pedir al paciente que abra y cierre la mano varias veces, para favorecer la dilatación de las venas; una vez escogida la vena, colocar la aguja en dirección paralela a la vena, perforar la piel haciendo avanzar la aguja entre 0,5 cm y 1 cm en el tejido subcutáneo, luego insertar el tubo al vacío por la parte posterior para realizar la extracción.

Retirar la ligadura tirando del extremo doblado y colocar un pedazo de algodón seco sobre la parte donde se encuentra oculta la aguja. Pedir al paciente que presione firmemente el algodón durante 3 minutos, con el brazo extendido. No se recomienda que se flexione el brazo a causa del riesgo que se forme un hematoma. Mezclar por inmersión suave la sangre con el anticoagulante contenido en el tubo.

El plasma será distribuido para los grupos control, blanco y para cada una de las 5 concentraciones, obteniéndose 7 tubos para las diferentes determinaciones.

### 3.5.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTICOAGULANTE *IN VITRO*

La muestra de sangre venosa se recolectó en tubos de 4.5 ml con citrato de sodio a 3.2 %. Se centrifugó la muestra de sangre a 5000 r.p.m por quince minutos. Posteriormente se colocó 2.9 ml de plasma a siete tubos, al primero no se agregó suero fisiológico ni extracto (Tubo control) y los siguientes tubos 100 µl de extracto a diferentes concentraciones. Se incubo por cinco minutos a 37°C y se realizaron 05 mediciones de TP y TTPa con las muestras de plasma por separado, con la finalidad de obtener un porcentaje de error mínimo en las determinaciones respectivas, utilizando plasma sanguíneo de personas con tiempos de coagulación dentro del rango normal. Se seguirá estrictamente las instrucciones del protocolo provisto por el inserto (*Anexos 07 y anexo 08*)).

#### a. Procedimiento semiautomatizado

Este procedimiento consiste en aplicar la técnica de TP y TTPa empleando un equipo semiautomático, que en este caso es el coagulómetro Wiener Lab.

Al iniciar el trabajo se debe encender el equipo 10 minutos antes, cuando el indicador de temperatura este en 37 °C, en la cubeta de reactivos se coloca el frasco conteniendo un volumen suficiente como para procesar todas las muestras que fueron obtenidas el tiempo de conservación de las muestras de plasma (de 2 horas) a temperatura ambiente (25°C).

Luego en la cubeta lectora se coloca el plasma según la cantidad que indique el inserto y luego agregar 100 y 200 ul para TP y TTPa, tapar y luego verter 200 ul de Protrombina; tromboplastina y ClCa en TP y TTPa respectivamente con la pipeta automática a través de la perforación que tiene. El instrumento marca exactamente el momento en el que se produce el coágulo, para todas las concentraciones se procede de la misma manera.

Las características del equipo coagulómetro Wiener Lab (**anexo 04**).es que cuenta con un sistema óptico de medida, mediante el cual se detecta por densidad óptica la formación del coagulo, el cronometro interno marca el tiempo del fin de la reacción deteniendo el marcador cada vez que se forme el coágulo

#### **3.5.4. RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se seleccionó los donantes previo consentimiento informado (**anexo 02**) y ficha de encuesta (**anexo 06**) para donación de las muestras sanguíneas respectivas y la realización del presente trabajo de investigación.

La muestra vegetal se recolectó del distrito de Sallique en horas de la mañana 05.00 am Provincia de Jaén, Departamento de Cajamarca, a una altitud aproximada de 1675 msnm, posteriormente se identificó por un taxonomista del Herbarium de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima- Perú) (**anexo 14**)

Para la evaluación del efecto anticoagulante del extracto de *Allium sativum* (Ajo.), los resultados del tiempo de coagulación para TTPa y TP con las diferentes diluciones del extracto serán registrados en la tarjeta de recolección de datos (**Anexos N° 05**).

### **3.5.5. ANÁLISIS DE DATOS**

Los resultados obtenidos en cada prueba se expresaron en términos de los valores resultantes, así se determinará el grado de efecto anticoagulante en relación a los tiempos de formación del coágulo tanto en el Tiempo de Protrombina como en el Tiempo de Tromboplastinas Parcial Activada en segundos.

Se procedió a calcular la media y la desviación estándar como medidas de tendencia central para representar el efecto anticoagulante del extracto, las mismas que serán representadas mediante tablas y gráficos en Excel.

Los datos serán procesados mediante el Análisis de Varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ . Todos los procedimientos se realizan mediante la utilización del programa SPSS versión 23.

#### IV. RESULTADOS

**Tabla 1.** Volúmenes a diferentes concentraciones de extracto de *Allium sativum* “ajo”.

Nº Tubos	Plasma (ml)	Solución salina fisiológica (ul)	Extracto acuoso (ul)	Concentración (extracto/volumen total plasma)
1	3.0	----	----	0%
2	2.9	100	----	0%
3	2.9	----	<b>100</b>	3.3 %
4	2.9	25	<b>75</b>	2.5%
5	2.9	50	<b>50</b>	1.6 %
6	2.9	75	<b>25</b>	0.83 %
7	2.9	87.5	<b>12.5</b>	0.416%

**Tubo 1. Tubo control** (sin la adición de extracto ni suero fisiológico)

**Tubo 2. Tubo blanco** (adición de solución salina fisiológica)

**Tubo 3. Extracto puro**

**Tubo 4, 5, 6, 7. Concentraciones del extracto**



**Tabla 2. Valores de Tiempo de Protrombina (TP) por donante y tiempo promedio.**

Nº Tubos	Tiempo de Protrombina (TP) por donante en segundos					
	1	2	3	4	5	Tiempo (prom.)
<b>1(CONTROL)</b>	12.4	13.0	12.4	11.8	12.9	<b>12.5</b>
<b>2(BLANCO)</b>	12.6	13.8	12.2	11.4	12.3	<b>12.46</b>
<b>3 (100 %)</b>	110.3	112.0	113.5	110.1	111.9	<b>111.56</b>
<b>4 (75 %)</b>	84.5	86.7	85.5	86.2	85.9	<b>85.76</b>
<b>5 (50 %)</b>	68.8	67.0	67.3	68.7	66.1	<b>67.58</b>
<b>6 (25 %)</b>	49.4	47.9	48.8	46.5	49.5	<b>48.42</b>
<b>7 (12.5%)</b>	32.8	31.0	32.6	32.3	33.9	<b>32.52</b>

En la tabla 2, el Tiempo de Protrombina(TP) promedio para el **Tubo 1: CONTROL**(Plasma) fue de **12.5** segundos; para el **Tubo 2: BLANCO** (NaCl0.09% + Plasma), el TP fue de **12,46** segundos y en el **Tubo 3: Extracto (Extracto puro+ Plasma)**, el TP fue **111.5** segundos; mientras que a partir del **Tubo 4**, se muestran las diluciones a diferentes concentraciones del Extracto de *Allium sativum* (ajo), donde se evidencia la disminución del TP hasta el Tubo 7, siendo dicha disminución dosis-dependiente a la concentración utilizada.

**Tabla 3. Valores de Tiempo parcial de tromboplastina activada (TTPa) por donante y tiempo promedio.**

Nº Tubo	Tiempo parcial de tromboplastina activada (TTPa) por donante en segundos					
	1	2	3	4	5	Tiempo (prom.)
<b>1(CONTROL)</b>	37.0	38.1	39.2	36.7	35.3	<b>37.26</b>
<b>2(BLANCO)</b>	38.2	38.0	39.1	37.6	36.9	<b>37.9</b>
<b>3 (100%)</b>	143.3	142.6	143.4	142.1	144.5	<b>143.18</b>
<b>4 (75%)</b>	119.9	122.1	123.0	120.6	119.8	<b>121.08</b>
<b>5 (50%)</b>	103.5	106.7	107.4	104.9	100.5	<b>104.6</b>
<b>6 (25%)</b>	77.2	79.3	81.4	78.8	75.7	<b>78.48</b>
<b>7 (12.5%)</b>	59.4	57.7	61.9	58.4	60.3	<b>59.15</b>

En la **tabla 3**, el Tiempo parcial de tromboplastina activada (TTPa) promedio para el **Tubo 1: CONTROL** (Plasma) fue de **37.26** segundos; para el **Tubo 2: BLANCO** (NaCl 0.09%+ Plasma), el TTPa promedio fue de **37.9** segundos y para el **Tubo 3: Extracto** (Extracto puro + Plasma), el TTPa fue **143.18** segundos. A partir del **Tubo 4**, se muestran las diluciones a diferentes concentraciones del Extracto de *Allium sativum* (ajo), donde se evidencia la disminución del TTPa hasta el **Tubo 7**, siendo dicha disminución dosis-dependiente a la concentración utilizada.

**Tabla 4.** Análisis de Varianza y Prueba de Tukey para el efecto de las concentraciones del extracto de *Allium sativum* sobre el Tiempo de Protrombina.

Tiempo de protrombina en segundos							
HSD Turkey <sup>a,b</sup>		Subconjunto para alfa: 0.05					
	N		1	2	3	4	5
<b>Control</b>		<b>12,500</b>					
Extracto acuoso al 12.5%	5		<b>32,520</b>				
Extracto acuoso al 25%	5			<b>48,420</b>			
Extracto acuoso al 50%	5				<b>67,580</b>		
Extracto acuoso al 75%	5					<b>85,760</b>	
Extracto acuoso al 100%	5						<b>111,560</b>
<b>Sig.</b>		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

Se basa en las medias observadas.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

b. Alfa = 0.05.

**Tabla 5.** Análisis de Varianza y Prueba de Tukey para el efecto de las concentraciones del extracto de *Allium sativum* sobre el Tiempo de Tromboplastina Parcial activada.

**Tiempos de TTPA por paciente en segundos**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

		Subconjunto para alfa = 0.05					
	N		1	2	3	4	5
<b>Control</b>		<b>37,260</b>					
Extracto acuoso al 12.5%	5		<b>59,540</b>				
Extracto acuoso al 25%	5			<b>78,480</b>			
Extracto acuoso al 50%	5				<b>104,600</b>		
Extracto acuoso al 75%	5					<b>121,080</b>	
Extracto acuoso al 100%	5						<b>143,180</b>
Sig.		<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

b. Alfa = 0.05.

## V. DISCUSIÓN

Este estudio se realizó para evaluar el efecto anticoagulante de *Allium sativum* (Ajo), en muestras de sangre de individuos normales utilizando como principios tiempos de coagulación.

Diferentes estudios *in vitro* indican que altera el TP (26). En este estudio el extracto de ajo prolongó el TP Y TTPa, resultado que nos permite afirmar que posee principios activos capaces de interferir con la actividad de la cascada de coagulación, esto se puede evidenciar en trabajos anteriores como Lizet C. (13), Zarsosa- N. (10), Narjis H. (17), en el cual se evidenció el efecto anticoagulante de *Allium sativum* (ajo) en diferentes métodos y procedimientos.

Esto se respalda en las teorías descritas por Baglin T. y Jones L. (27), quienes señalan que el TP es una prueba para evaluar los factores II, V, VII y X presentes en la vía extrínseca de la coagulación, por lo tanto, inhibiría la actividad de dichos factores.

Se usó como controles las pruebas de TP y TTPa realizadas en el plasma citratado de pacientes con valores normales de coagulación; para estas pruebas se realizó el mismo procedimiento que el utilizado para los extractos a diferentes concentraciones, con la diferencia que no se coloca el volumen de extracto de ajo.

El efecto anticoagulante del ajo se explica en los componentes órgano-sulfurados (28) que provocarían la disociación de los factores presentes en la vía extrínseca e intrínseca inactivándolos de manera directamente proporcional a las concentraciones del extracto prolongando el tiempo de la formación del coágulo de fibrina.

En el grupo 2 (tubo blanco) el TP promedio fue de 12,46 segundos, es decir no hubo una variación significativa en relación al tubo control al usar solución salina fisiológica. Para el TTPa el tiempo promedio fue de 37.9 segundos, ligeramente mayor al tubo control, lo que indica que el suero fisiológico actuaría como un interferente indirecto del TTPa, alterando la sensibilidad de los resultados para esta prueba, pero sin inhibir el efecto de los factores de coagulación (29)

Al utilizarse extracto acuoso puro (tubo 3) sin diluciones previas, se pudo evidenciar la intensa actividad anticoagulante del ajo, al registrarse tiempos de coagulación extensos sobre ambas pruebas (TP y TTPa), esto significa que a diferentes concentraciones los componentes enzimáticos: alicina, presentes en el ajo provocarían la disociación de los factores de la coagulación inactivándolos de una manera directamente proporcional a la concentración del extracto; impidiendo así la formación del coágulo de fibrina, corroborándose en diferentes trabajos anteriores como Lizet C. (13)., Zarsosa- N. (10), Narjis H. (17).

A nivel internacional, aunque la metodología no sea comparable ya que se usa el extracto de otras especies como las de *Ricinus communis*, podemos destacar los estudios realizados en Irak por Narjis H. (17) donde se demuestra que el extracto de ajo a concentraciones de 75%, 50%, 25% prolongó el TP y TTPa. En nuestro país se ha estudiado el extracto acuoso de *Allium sativum* “ajo” por Lizet C. (13) determinando que *Allium sativum* incrementa el tiempo de Protrombina, INR y Tiempo de Tromboplastina activada pero no significativamente para pacientes sanos y que reciben medicación con warfarina.

Adicionalmente, para afirmar categóricamente que el compuesto responsable de la anticoagulación es la Licina (28), debemos aislar este complejo proteico del ajo y realizar determinaciones *in vitro*. Así mismo, es necesario elaborar estudios *in vivo* en modelos animales para determinar su efecto tras la administración oral o parenteral y así establecer si este podría ser usado en la terapia farmacológica anticoagulante o fibrinolítica en el futuro.

Existe una amplia revisión bibliográfica del efecto anticoagulante del ajo y su uso

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Los resultados obtenidos en la presente investigación nos permiten afirmar que el ajo posee efecto anticoagulante *in vitro* sobre las pruebas de la coagulación sanguínea (TP y TTPa) a una concentración igual o mayor a 12.5 %.

La concentración de extracto de *Allium Sativum* “ajo” que ejerce mayor efecto anticoagulante es al 100% con un tiempo promedio de 143.18 segundos.

Se pudo evaluar y comprobar el efecto anticoagulante *in-vitro* del extracto de ajo sobre la cascada de la coagulación sanguínea, a partir de los tiempos de coagulación obtenidos en las pruebas de TP y TTPa con las diferentes concentraciones del extracto, comprobándose dicho efecto con la formación de los coágulos por encima de los tiempos normales en ambas pruebas.

Se pudo evidenciar la intensa actividad anticoagulante que presenta el extracto de *Allium Sativum* “ajo” sobre ambas pruebas de la coagulación sanguínea, a una concentración de 100 % (v/v), en la que se evidenció un aumento de los tiempos de coagulación para ambas pruebas y por debajo de esta dosis la actividad fue menos intensa (disminución de los tiempos de coagulación).

## 5.2 Recomendaciones

A los futuros investigadores se recomienda:

Ampliar los estudios del efecto anticoagulante de *Allium sativum* (ajo) con diferentes concentraciones, para establecer si existe correlación entre los resultados obtenidos en esta investigación, ya que en trabajos ya realizados se muestra que esta técnica ofrece mayores ventajas, teniendo un rendimiento relativamente alto al extraer los compuestos bioactivos (alicina y ajoeno), función reconocida y demostrada científicamente del contenido enzimático

Realizar un análisis fitoquímico de *Allium sativum* ajo, para establecer el porcentaje de carbohidratos que posee esta hortaliza. Adicionalmente es necesario realizar un estudio de espectroscopia infrarroja que permita conocer específicamente cuál es el componente que le confiere el efecto anticoagulante.

Investigar los efectos del *Allium sativum* sobre animales de experimentación (estudios *in vivo*) para evaluar su efecto anticoagulante.

Continuar investigando el extracto acuoso *Allium sativum* para determinar si su contenido de alicina y ajoeno podría lizar también el coágulo de fibrina una vez formado (capacidad fibrinolítica).

Evaluar los efectos antiagregantes plaquetarios del extracto de *Allium sativum* sobre las pruebas de coagulación.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades Cardiovasculares. [Online].; 2019 [cited 2019 Mayo 21. Available from: [https://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/about\\_cvd/es/](https://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/es/).
2. Enfermedades cardiacas en cifras Perú. Perú informa. [Online].; 2019 [cited 2019 Mayo 6. Available from: <http://www.peruinforma.com/enfermedades-cardiacas-cifras-peru/>.
3. Sánchez-M. Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). Alan(on line). 2014 septiembre; 50(3).
4. Duran P, Rodriguez M. Anticoagulación oral. Anales de Medicina Interna. 2003; 20(7).
5. Anticoagulación. Fundación Española del Corazón. [Online].; 2019 [cited 2019 Mayo 6. Available from: <https://fundaciondelcorazon.com/informacion-para-pacientes/tratamientos/anticoagulante-anticoagulacion.html>.
6. Versteeg H, Heemskerk J, Levi M, Reitsma P. New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev*. 2013; 93(1).
7. Arteche Pérez, José Pedro. Observacion de la actividad antimicrobiana del ajo(*Allium Sativum*). *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*. 2011 Noviembre; 8(1): p. 4-5.
8. Guh J, Jong T, Teng M. Efecto antiplaquetario del gingerol aislado de *Zingiber officinale*. *PubMed*. 95 Abril; 47(4).
9. Torres C, Guzmán L, Schmeda G, Moore R, Alarcón M, Astudillo L. Efecto Antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas. *Revista Chilena de Nutrición*. 2008 Marzo; 35(1).
10. Zarzosa N. Efecto sobre el sistema de la coagulación del zumo de frutas y hortalizas peruanas. *Horiz Med*. 2015 Enero; 15(2).

11. Agusti R. Factores de Riesgo Cardiovascular. Revista Peruana de Cardiología. 2005 Enero-Abril.
12. Nutricion sin mas. 10 propiedades del ajo probadas científicamente. [Online].; 2015 [cited 2018 Agosto 17. Available from: <https://www.elnuevoherald.com/vivir-mejor/salud/article21552888.html>.
13. Bravo C. Efectos in vitro de *Allium sativum* L. (ajo), *Allium cepa* L. (cebolla) y *Zingiber officinale* Rosc. (jengibre) sobre el sistema de coagulación en pacientes sanos y tratados con warfarina, Arequipa 2018. Tesis de Pregrado. Arequipa: Universidad Nacional San Agustín, Escuela Profesional de Biología; 2018.
14. Villalta V, Garica C. Efecto anticoagulante in vitro del extracto etanólico del rizoma de *curcuma longa* L. "palillo" en muestras sanguíneas de mujeres jóvenes. Tesis de Pregrado. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego-UPAO, Obstetricia; 2017.
15. Porras D. Revista de la Sociedad Química del Perú. Efecto antiagregante plaquetario in vivo y fibrinolítico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre). 2011 Julio; 77(3): p. 225-234.
16. Sánchez D, Rojas P, Agüero B. Revision Bibliográfica. Investigaciones actuales del empleo de *Allium sativum* en medicina. 2015 Marzo; 41(3).
17. Narjis Hadi Mansoor Al-Saadi. Estudio in vitro de la actividad anticoagulante de extractos de planta. Indian Journal. 2013 Julio; 3(7).
18. Bijak M, Ziewieck S, Ponczek M, Pawlaczyk I, Krotkiewski H, Wachowicz B. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape sedes. Elsevier. 2013 octubre 16; 82(6).
19. Espinoza C. Mecanismo de Acción antiplaquetaria del tomate. Memoria Bibliográfica. Talca: Universidad de Talca, Sistema de Bibliotecas; 2010.
20. Monje C. Metodología de la Investigación Cuantitativa y Cualitativa. [Online].; 2011 [cited 2019 mayo 18. Available from: <https://www.uv.mx/rmipe/files/2017/02/Guia-didactica-metodologia-de-la-investigacion.pdf>.
21. Majluf-C. La realidad de la prevalencia de la trombosis. Gac Méd Méx. 2003 Setiembre; 139(2).
22. Lancaster J, Collin H. Presencia de aliinasa en vacuolas aisladas y de alquil cisteína sulfóxidos en el citoplasma de bulbos de cebolla (*Allium cepa*). Plant Science Letters.

- 1981 mayo; 22(2): p. 169-176.
23. Kartheek Ch, Mounika M, Rajeswari N, Vanibala P, Sujatha P. In vitro study of the anticoagulant activity of some. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2018 mayo; 7(5).
  24. Muñoz A. Extracción y caracterización de polisacáridos con actividad anticoagulante a partir de algas colectadas en Baja California Sur, Mexico. Tesis de Maestría. La Paz: Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas; 2006.
  25. Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología. In Cabezas C, editor. Serie de Normas Técnicas. Lima; 2005. p. 87.
  26. Mansoor N. In vitro study of the anticoagulant activity of some plant extracts. Indian journal of applied research. 2013 mayo; 3(7).
  27. Palomo L. Estudio de laboratorio de las enfermedades hemorráicas. En hematología, Fisiopatología y Diagnóstico. 2005; 7(52).
  28. N., Mansoor. In vitro study of the anticoagulant activity of some plant extracts. ; 2013 Mayo.
  29. Dacie JB. Hematología Práctica. Tercera ed. SM L, editor.: Toray; 2013.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, padre celestial por guiarnos en todo momento

A cada uno de los docentes de la Escuela Profesional de Tecnología Médica que brindaron su conocimiento, tiempo e interés por formarnos como profesionales de calidad.

A la Dra. Luz Azucena Torres García, por ser nuestra asesora en la elaboración de Trabajo de Grado, por su apoyo, tolerancia y comprensión, aportándonos en todo momento recomendaciones que fueron de gran utilidad para la realización del mismo.

Al Licenciado Tecnólogo Médico César Medina Tasillo, Gerente del Laboratorio Clínico “MEDILAB”, por permitirnos usar las instalaciones, para la determinación del efecto anticoagulante de ajo, por sus consejos y su guía en la realización de este proyecto de investigación.

Al Licenciado Tecnólogo Médico Adolfo Díaz Ginez, por su valiosa guía y asesoramiento a la realización de la misma.

Al Sr. Fernando del Águila Castillo por su colaboración en la parte estadística de la investigación.

Al distinguido jurado:

Dr. Luis Omar Carbajal García

Dra. Irma Rumela Aguirre Zaquinaula

MSc. Wagner Colmenares Mayanga

Que con sus observaciones y sugerencias nos ayudaron a mejorar y culminar el presente trabajo.

A mi familia, amigos y todas las personas que ayudaron en la realización de este proyecto de investigación.

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser mi luz y mi guía. A mis padres por darme la vida, ser mi apoyo y mi razón de superación. A mi hermana Nancy porque ha estado conmigo sin dudar ni un solo momento en mí y a mi compañera de vida, Daicy, por ayudarme a llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional, compartiendo y viviendo conmigo cada una de las diversas etapas que implico el desarrollo de ésta.

**Marcos**

A mis padres por ser el pilar fundamental, por inculcarme valores para ser un ciudadano de bien en toda mi educación tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo durante este tiempo

**Elzer**

## **ANEXOS**

## ANEXO 1. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

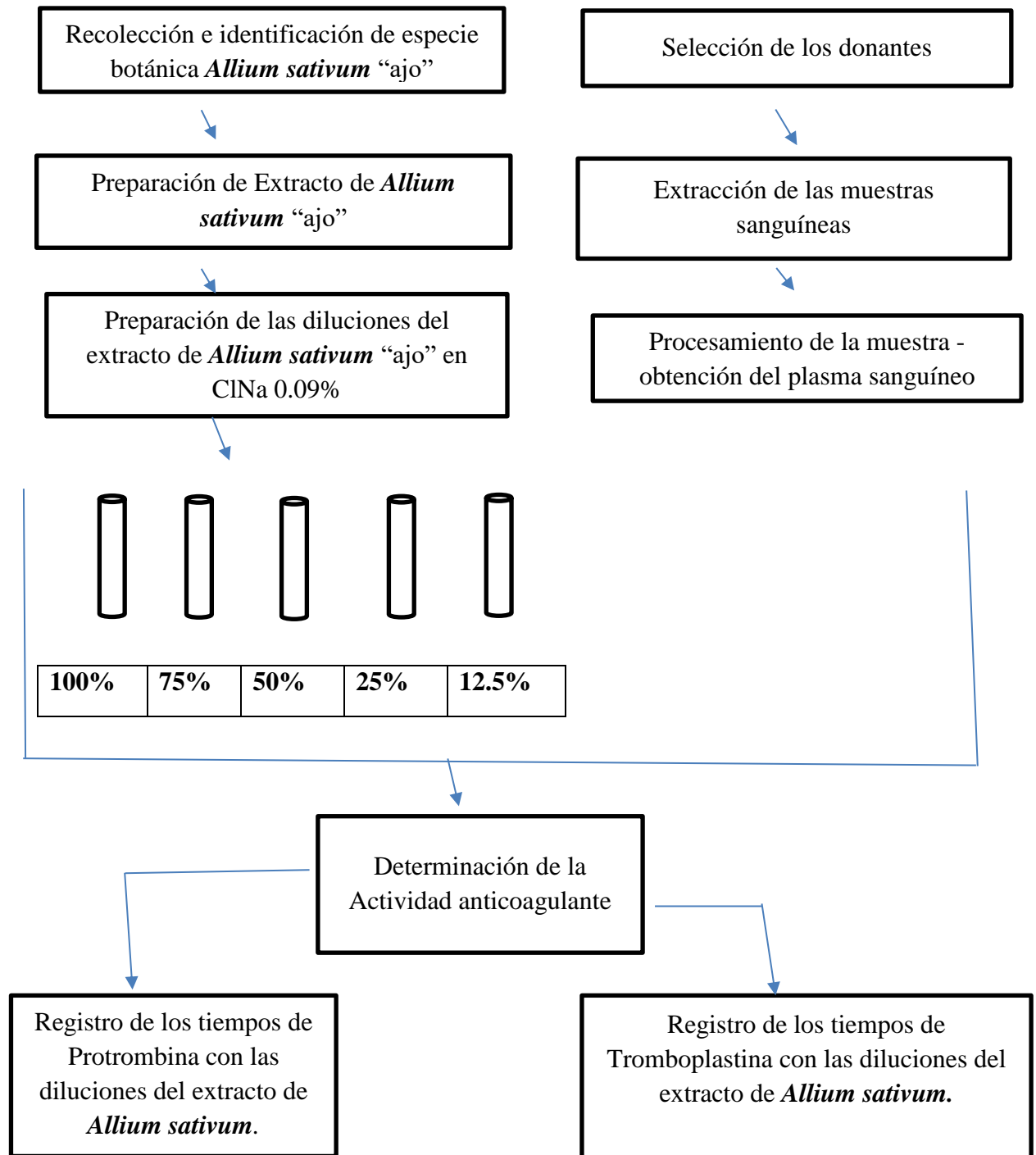
VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ÍNDICE	ESCALA
Extracto de <i>Allium sativum</i> “ajo”.	Sustancia viscosa, producto de la liberación de enzimas, usado en medicina empíricamente como antibacteriano, antifúngico.	El extracto fue extraído de los bulbos de ajo triturados en un medio estéril	Diluciones del extracto de <i>Allium sativum</i> “ajo” en CIna	<b>Concentración 100 %</b> <b>Dilución 1:</b> 75 % <b>Dilución 2:</b> 50 % <b>Dilución 3:</b> 25 % <b>Dilución 4:</b> 12.5 %	Intervalar  Tipo:  Cualitativo

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Efecto anticoagulante	Mecanismo por el cual una sustancia es capaz de detener la hemorragia producida por la ruptura de la pared vascular impidiendo así la formación de coágulos excesivos mediante la inhibición de los factores de coagulación sanguínea	Obtención del extracto de <i>Allium sativum</i> “ajo” y diferentes diluciones. El plasma citratada, se mezcla con las diluciones, se realiza las mediciones del (TP) y el (TTPa), haciendo 5 repeticiones en las diferentes concentraciones del extracto y así determinar si el efecto es dosis-dependiente.	Valores de Tiempo de protrombina (TP), (TTPa) en segundos.	<p><b>No posee efecto anticoagulante:</b> Valor TP, TTPa Normal &lt; ò igual TP, TTPa Basal</p> <p><b>Posee efecto anticoagulante:</b> Valor normal TP, TTPa &gt; TP, TTPa Basal</p>	Intervalar  Tipo:  Cuantitativo

**FUENTE:** Elaborado por los autores. Valor de referencia de TP Wiener Lab (10-14 Seg.). Valor de referencia de TTPa Wiener Lab (33-48 Seg)



## ANEXO 2. ORGANIGRAMA DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL Y RECOLECCIÓN DE DATOS.



### **ANEXO 3. FICHA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.**

#### **DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Por la presente afirmo haber obtenido la información adecuada sobre la posibilidad de participar como donante de sangre para el PROYECTO DE TESIS: **“EFECTO ANTICOAGULANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Allium sativum* “AJO” SOBRE LA CASCADA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA”**.

He sido informado de los posibles perjuicios que la extracción de 35 ml de sangre pueda tener sobre mi bienestar y salud. He sido también informado de que mis datos personales serán protegidos según **ley N° 29733**.

La presente investigación ayudará a evaluar si el extracto acuoso *Allium sativum* (ajo) presenta o no efecto anticoagulante sobre la cascada de la coagulación sanguínea y de este modo contribuir como una alternativa terapéutica segura en la búsqueda de nuevos anticoagulantes para el tratamiento de *Enfermedades Cardiovasculares*, por lo que es importante la realización de este trabajo de investigación, durante los meses de marzo a junio del 2019.

Me han indicado también que tendré que responder cuestionarios y preguntas en una entrevista, lo cual tomará aproximadamente 10 minutos.

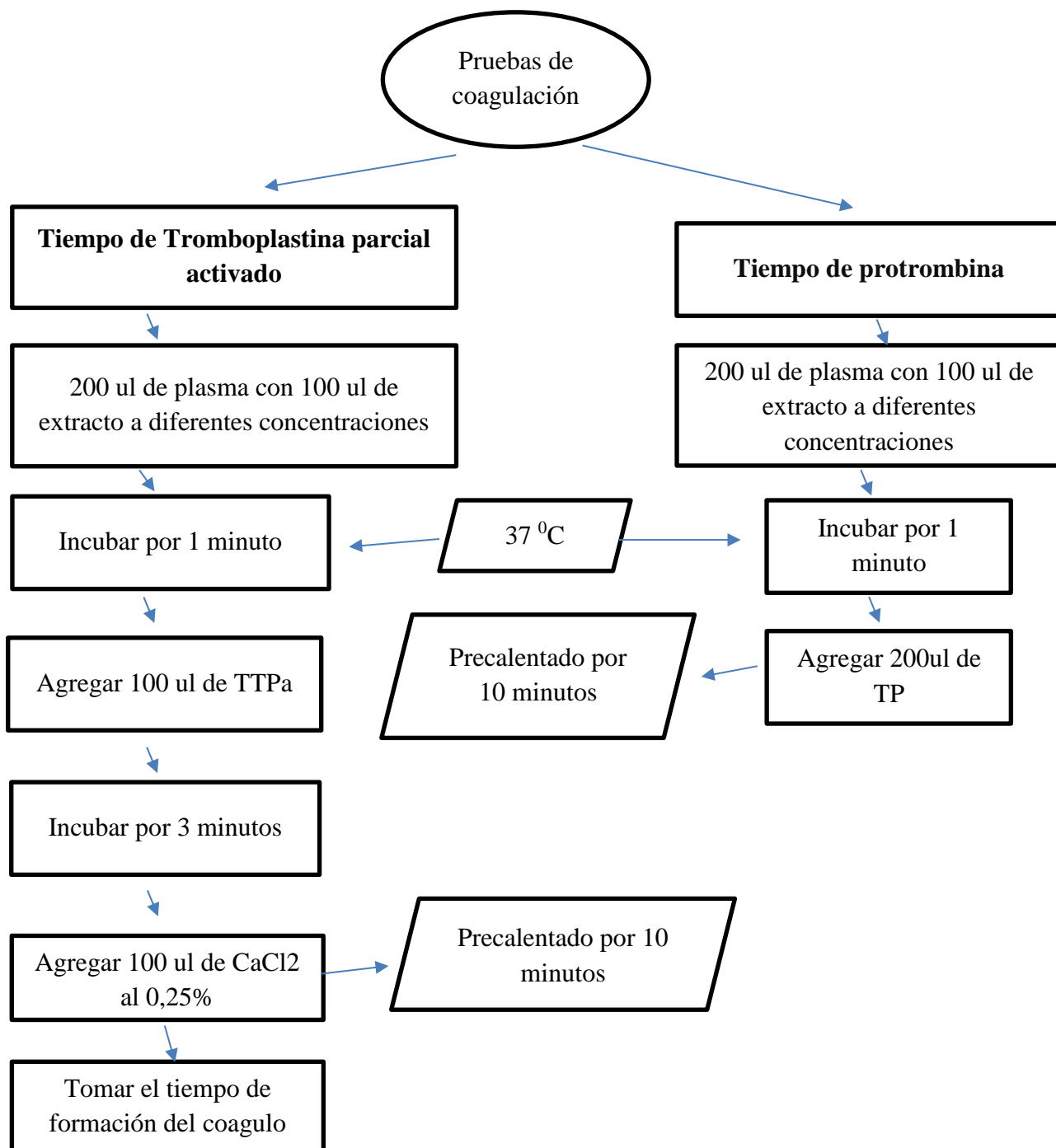
Tomando ello en consideración, **OTORGO MI CONSENTIMIENTO** a que esta extracción tenga lugar y responder a su encuesta para selección de donantes.

-----  
Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

#### ANEXO 4. ALGORITMO DE EVALUACIÓN DE EFECTO ANTICOAGULANTE.



**Fuente:** Los autores.

**ANEXO 5. TARJETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LOS TIEMPOS DE COAGULACIÓN (TP, TTPA)**

Nº TUBO	Tiempo de coagulación (TP Y TTPA) en segundos					
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	(Promedio)
<b>01</b> *						
<b>02</b> (+)100						
<b>03</b> (+)75						
<b>04</b> (+)50						
<b>05</b> (+)25						
<b>06</b> (+)12.5						

\* Grupo control.

(+) Concentraciones del extracto.

**Fuente:** Elaboración propia, junio del 2019

## ANEXO 6. FICHA DE ENCUESTA PARA SELECCIÓN DE DONANTES

FICHA N° \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

NOMBRES: \_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_

LEER CUIDADOSAMENTE CADA PREGUNTA Y RESPONDER MARCANDO CON UN ASPA:

1.- ¿Padece Ud. de alguna enfermedad cardiovascular?

2.- ¿Ha recibido tratamiento farmacológico para esa enfermedad?

3.- ¿Consumió algún tipo anticoagulantes orales?

4.- ¿En caso de ser de sexo femenino responda la pregunta:

¿Recibe Ud. terapia con anticonceptivos orales?

6.- ¿Ha recibido tratamiento farmacológico en los últimos tres meses?

SI....

NO....

7.-¿Qué tipo de medicamentos (especifique):

8.- ¿Tiene Ud. algún familiar que padezca de enfermedades crónicas (diabetes, hepatitis, hipertensión o similar) o algún trastorno de la coagulación?

SI....

NO....

Si su respuesta es "SI", especifique de que enfermedad o problema de coagulación padece su familiar:

9.- ¿Está Gestando?

10.- ¿Ha tenido problemas de corazón o de la presión arterial sanguínea?

11.- ¿Ha recibido alguna transfusión de sangre o de factores de la coagulación?

## VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

### INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS

#### I. DATOS GENERALES DE LOS TESISISTAS:

##### 1. Nombres y apellidos de los tesisistas:

Bach. Marcos Coronel Tapia

Bach. Elzer Berru Flores

##### 2. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Ficha de encuesta para selección de donantes

##### 3. Nombres y apellidos del validador del instrumento: Romel Ivan Huera Huera

##### 4. Cargo o Institución donde labora: Docente - UNJ

##### 5. Título de la tesis: EFECTO ANTICOAGULANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Allium sativum* "AJO" SOBRE LA CASCADA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA.

#### II. ASPECTOS DE EVALUACIÓN

ITEMS	INDICADORES	CRITERIOS				
		DEFICIENTE 0- 20 %	REGULAR 21- 40 %	BUENA 41- 60 %	MUY BUENA 61- 80 %	EXCELENTE 81 - 100%
1	CLARIDAD				80	
2	OBJETIVIDAD				75	
3	ACTUALIDAD				75	
4	ORGANIZACIÓN				75	
5	SUFICIENCIA				80	
6	INTENCIONALIDAD				75	
7	CONSISTENCIA				80	
8	COHERENCIA				80	
9	METODOLOGÍA				80	

#### III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Muy buena

#### IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 79.7



FIRMA DEL VALIDADOR DE LA ENCUESTA

DNI: 47363616

**VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO**  
**INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS**

**I. DATOS GENERALES DE LOS TESISISTAS:**

**1. Nombres y apellidos de los tesisistas:**

Bach. Marcos Coronel Tapia

Bach. Elzer Berru Flores

**2. Nombre del instrumento motivo de evaluación:** Ficha de encuesta para selección de donantes

**3. Nombres y apellidos del validador del instrumento:** *Scanda E. Viquez*

**4. Cargo o Institución donde labora:** *Docente UCV*

**5. Título de la tesis:** EFECTO ANTICOAGULANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Allium sativum* "AJO" SOBRE LA CASCADA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA.

**II. ASPECTOS DE EVALUACIÓN**

ITEMS	INDICADORES	CRITERIOS				
		DEFICIENTE 0- 20 %	REGULAR 21- 40 %	BUENA 41- 60 %	MUY BUENA 61- 80 %	EXCELENTE 81 - 100%
1	CLARIDAD				70	
2	OBJETIVIDAD				75	
3	ACTUALIDAD				75	
4	ORGANIZACIÓN				70	
5	SUFICIENCIA				75	
6	INTENCIONALIDAD				75	
7	CONSISTENCIA				75	
8	COHERENCIA				75	
9	METODOLOGÍA				80	

**III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:** *Muy buena*

**IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:** *74.4*

FIRMA DEL VALIDADOR DE LA ENCUESTA

DNI:

*17813271*

## **ANEXO 7. PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE TIEMPOS DE TP (INSERTO- LABORATORIOS WIENER LAB.)**

### **Soluplastin TP**

Tromboplastina cálcica para la determinación del tiempo de Protrombina en una etapa. Wiener Lab.

#### **SIGNIFICACIÓN CLÍNICA**

El fenómeno de la coagulación puede desencadenarse por una "vía extrínseca" (lesión tisular) o por una "vía intrínseca" (contacto de la sangre con epitelios distintos del vascular normal). La determinación del tiempo de protrombina o tiempo de Quick es una prueba global para evaluar la coagulación extrínseca, siendo sensible a: factor II o protrombina, Factor V o proacelerina, factor VII o proconvertina y factor X o Stuart-prower.

Por lo tanto, la determinación se aplica a:

Estudios en rutina en los análisis prequirúrgicos.

-Detección de alteraciones en los niveles de uno o más factores involucrados en la vía extrínseca.

-Control de la terapéutica con anticoagulantes orales.

#### **FUNDAMENTOS DEL MÉTODO**

Este ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado a 37°C y en presencia de un exceso de tromboplastina tisular y calcio. El método no detecta deficiencia de factores de la vía intrínseca (VIII,XI,XII).

#### **REACTIVO PROVISTO**

A Reactivo A viales conteniendo tromboplastina de cerebro de conejo, cloruro de calcio para una concentración final de 0,0125 mol/l y cloruro de sodio para una concentración final de 0,1mol/l.

#### **REACTIVO NO PROVISTO**

Agua bidestilada o desionizada.

#### **INSTRUCCIONES PARA SU USO**

-Abrir un vial quitando el precinto metálico y retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas del material.



-Agregar el volumen de agua bidestilada o desionizada indicado en el envase. Verificar que la temperatura del agua empleada no sea mayor a 37°C.

-Tapar y agitar suavemente hasta obtener una suspensión homogénea. Volver a homogeneizar cada vez que se emplee.

### **PRECAUCIONES**

El reactivo es para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### **ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

**Reactivo A:** estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

**Reactivo A reconstituido:** en refrigerador (2-10°C), es estable 5 días a partir del momento de su reconstitución.

### **MUESTRA: Plasma**

**a) Recolección:** Obtener sangre cuidadosamente (evitando estasis o trauma) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9+1 exacta (ejemplo: 4,5 ml de sangre + 0,5 ml de anticoagulante). Si se emplea Anticoagulante TP de Wiener lab., se requerirán 7 gotas para 4.5 mL de sangre). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos.

**b) Aditivos:** para obtener el plasma se debe emplear Anticoagulante TP de Wiener lab. O citrato de sodio 130 mmol/l (3.8%) o 109mmol/l (3.2%).

#### **c) Sustancias interferentes conocidas:**

- Las contaminaciones, visibles o no, son causa de tiempos falsamente prolongados;

La presencia de heparina o EDTA invalida los resultados;

- Hemolisis visibles dificultan la medición foto-óptica de los resultados.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el plasma debe mantenerse en el refrigerador (2-10°C) hasta el momento de efectuar el ensayo. En caso de no procesarse dentro de las 4 horas contadas desde la obtención, la muestra se debe congelar (a -20°C); de tal forma, puede conservarse durante un mes. Este último procedimiento debe ser

realizado con rapidez, al igual que el descongelamiento (sumergiendo en baño a 37°C) previo a la determinación.

#### **MATERIAL REQUERIDO (no provisto)**

- Tubos de hemolisis.
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro.
- Fuente luminosa para la observación del coágulo.

#### **PROCEDIMIENTO**

1. Colocar el plasma (desconocido o control) en baño de agua a 37°C durante 2-3 minutos (no más de 10 minutos).
2. En tubo de hemolisis, colocar 0,2ml de Reactivo A reconstituido y preincubar a 37°C durante 2-3 minutos (no más de 10 minutos).
3. Pipetear 100 ul de plasma preincubado y agregar rápidamente al tubo conteniendo 0,2 ml de Reactivo A, disparando simultáneamente el cronometro.
4. Mantener el tubo dentro del baño y cerca de una fuente de luz.

Previo al tiempo estimado de coagulación, sacar el tubo de baño, inclinar suavemente una o dos veces por segundo y detener el cronometro en el momento de la aparición del coagulo.

5. Calcular el tiempo promedio de coagulación de la determinación por duplicado para cada plasma (desconocido o control). Si la diferencia entre los replicados de una misma muestra es mayor del 5% se aconseja repetir el procedimiento desechando los valores anteriores.

En caso de emplear un instrumento de medición, deben seguirse las instrucciones del fabricante del mismo.

#### **VALORES DE REFERENCIA**

El rango de valores obtenidos en pacientes normales oscila entre:

Tiempo de protrombina o tiempo de Quick: 10-14 segundos.

Porcentaje de actividad protrombínica: 70 - 100%.

## **ANEXO 8. PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE TIEMPOS DE TTPA (INSERTO- LABORATORIOS WIENER LAB.)**

# **APTT<sub>Test</sub>**

Reactivo para la determinación del tiempo de  
Tromboplastina Parcial Activada. Wiener lab.

### **SIGNIFICANCIA CLÍNICA**

El tiempo de Tromboplastina parcial activada, es una prueba sensible a la deficiencia de factores procoagulantes del plasma, así como a la presencia de ciertos inhibidores de la coagulación.

Sirve para detectar anormalidades en la vía intrínseca de la coagulación, como son los factores necesarios para la formación del activador intrínseco de la protrombina, o sea los factores VIII, IX, XI y XII; también detecta deficiencias severas de los factores 11, V. X y fibrinógeno. La rapidez y sencillez de la prueba la hacen adecuada para el control de la terapéutica anticoagulante.

### **FUNDAMENTO DEL MÉTODO**

El ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado en un baño a 37°C y en presencia de un exceso de cefalina, activador y calcio.

### **REACTIVOS PROVISTOS**

**A. Reactivo A:** viales conteniendo cefalina con tierra de diatomeas como activador particulado.

**B. Reactivo B:** solución de cloruro de calcio 0,025mol/l.

**REACTIVOS NO PROVISTOS:** Agua bidestilada o desionizada.

### **INSTRUCCIONES PARA SU USO**

**Reactivo A,** preparación:

Abrir un vial quitando el precinto metálico y retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas de material.

Agregar el volumen de agua bidestilada indicado en el envase.

Verificar que la temperatura del agua no sea mayor a 37°C.

Tapar y agitar suavemente hasta obtener una suspensión homogénea. Volver a homogeneizar cada vez que se emplee.

**Reactivo B:** Listo para usar.

**MUESTRA:** Plasma.

**a) Recolección.** Obtener sangre cuidadosamente (evitando estasis o traumas) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9+1 exacta (ejemplo: 4,5 ml de sangre+ 0,5 de coagulante TP de Wiener lab.) Mezclar suavemente, centrifugar a 2500 g y separar el plasma antes de los 30 minutos. Es recomendable efectuar la extracción con jeringas plásticas.

**b) Aditivos:** Para obtener el plasma debe emplearse anticoagulante TP de Wiener lab. o citrato de sodio 0, 130 mol/L.

**c) Sustancias interferentes conocidas:**

Las contaminaciones visibles o no, son causa de tiempos falsamente prolongados.

No debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma.

Hemólisis visible dificulta la medición foto-óptica de los resultados.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** El plasma debe mantenerse en refrigerador hasta el momento de efectuar la prueba. Este periodo no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma debe congelarse a -20 °C. Este procedimiento al igual que el descongelado debe realizarse con rapidez (Sumergiendo en Baño a 37°C) previo a la determinación.

La muestra debe conservarse hasta el momento de sus análisis en tubo plásticos para minimizar los efectos de activación por contacto que pueden ocurrir con los tubos de vidrio.

## **MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO**

Tubos de hemolisis

Pipetas y micropipetas capaces de medir los volúmenes indicados.

Baño de agua a 37 °C

Cronómetro

Fuente luminosa, para la observación del coagulo.

**PROCEDIMIENTO**

Precalentar el cloruro de calcio antes de realizar la prueba en baño de agua a 37 °C

En un tubo de hemólisis colocar:

Muestra (plasma desconocido o control) 100 ul

Reactivo APTT (Homogeneizado) 100 ul

Mezclar e incubar 3 minutos a 37 C, luego agregar,

Reactivo B Cloruro de calcio a 37°C, 100ul

Disparar simultáneamente un cronómetro. Agitar brevemente para homogeneizar el contenido, mantener en el baño unos 25 segundos, luego sacar el tubo e inclinar suavemente una vez por segundo y detener el cronómetro en el momento de la formación del coágulo. Tomar nota del tiempo de coágulo.

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Los resultados pueden expresarse de distintas formas:

- 1) Como tiempo de tromboplastina parcial activada en segundos.
- 2) Como relación entre el tiempo obtenido con el desconocido y el de un plasma control.

**MÉTODO DE CONTROL DE CALIDAD**

Pool de plasmas frescos normales.

**VALORES DE REFERENCIA**

El intervalo de valores observados en individuos normales oscila entre 33-48 segundos. Se considera fuera de lo normal valores que difieran en más de 6 segundos de un plasma control.

Para técnicas manuales los valores oscilan entre 27.3-41 segundos. Es recomendable que cada laboratorio procese un plasma control con cada lote de reactivos empleado y que correlacione los valores obtenidos para los pacientes con el de dicho plasma, haciendo constar estos resultados en el informe.

## ANEXO 9. ANALIZADOR SEMIAUTOMATIZADO DE COAGULACIÓN.



**Fotografía 1.** Analizador semiautomatizado de coagulación para la evaluación del efecto anticoagulante.

## **ANEXO 10. EXTRACCIÓN SANGUÍNEAS DE LOS DONANTES VOLUNTARIOS**



**Fotografía 2.** Toma de muestra sanguínea a donante voluntario.

## ANEXO 11. CENTRIFUGACIÓN DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS.



**Fotografía 3:** Centrifugación de la muestra sanguínea.



## ANEXO 12. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE *Allium sativum* “AJO”



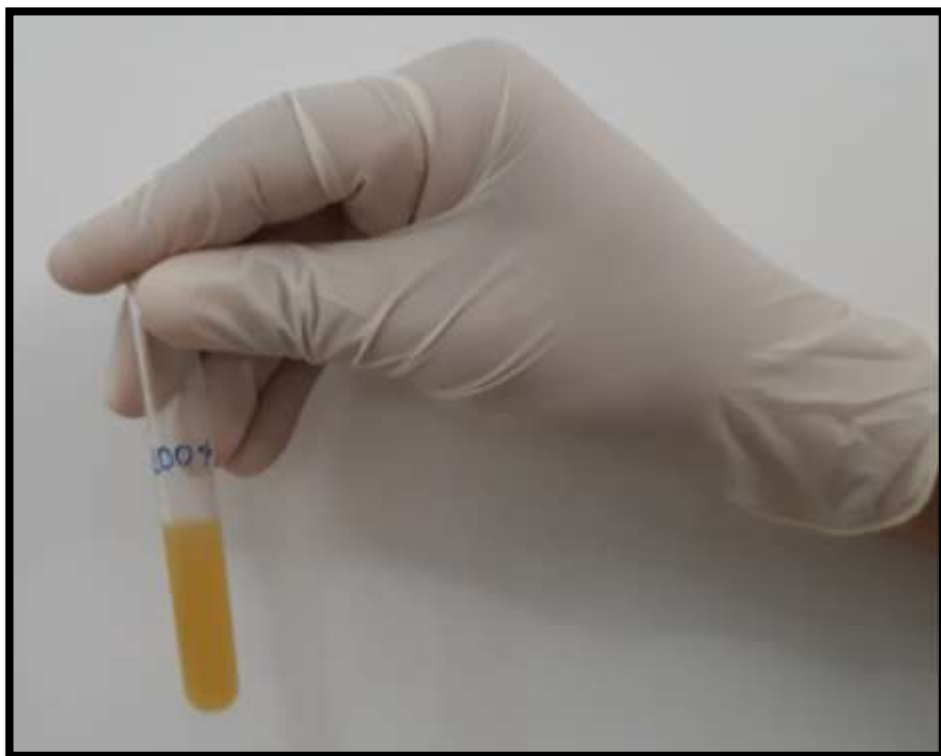
**Fotografía 4.** Bulbo de ajo



**Fotografía 5.** Pesado de la muestra: Bulbos de ajo.



**Fotografía 6.** Trituración y filtrado del extracto



**Fotografía 7.** Volumen final extraído.

### ANEXO 13. PREPARACIÓN DE LA MESA Y LOS MATERIALES DE TRABAJO.



Fotografía 8. Equipo de coagulación semiautomatizado y muestras sanguíneas.



Fotografía 9. Kit de pruebas básicas de coagulación (TP y TTPa).

## ANEXO 14. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

		<b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b> <small>Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA</small> <b>VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO</b> <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>	
---	---	--	---

**"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"**

**CONSTANCIA N°154-USM-2019**

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (bulbo), recibida de **Marcos Coronel Tapia y Elzer Berru Flores**; estudiantes de la Universidad Nacional de Jaén- Cajamarca; ha sido estudiada y clasificada como: ***Allium sativum* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUB CLASE: LILIIDAE**

**ORDEN: LILIALES**

**FAMILIA: LILIACEAE**

**GENERO: Allium**

**ESPECIE: *Allium sativum* L.**

Nombre vulgar: "Ajo"

Determinado por: Mg. Maria Isabel La Torre.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 08 de mayo de 2019



  
**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)


ACE/ddb

## ANEXO 15. NORMAS DE BIOSEGURIDAD

El personal involucrado en los diferentes procesos debe aplicar las medidas de bioseguridad establecidas en las Normas de Bioseguridad (Serie Normas Técnicas N° 18-INS), aplicable al personal, uso y desecho de sustancias y materiales, acceso a los locales, y el medio ambiente. *Las principales medidas de bioseguridad incluyen:*

1. Ingreso restringido al laboratorio.
2. Utilizar siempre guardapolvo o mandilones de laboratorio en la zona de trabajo.
3. El guardapolvo no debe salir de la zona del laboratorio, salvo para enviarlo a lavar.
4. No pipetear con la boca.
5. Está prohibido comer, beber, fumar, guardar alimentos, ni aplicarse cosméticos en el laboratorio.
6. En caso de tener cabello largo, recogerlo y cubrirlo.
7. Lavarse las manos luego de quitarse los guantes y antes de salir del laboratorio.
8. Utilizar protección para los ojos cuando el procedimiento genere gotas o aerosoles.
9. Utilizar siempre guantes estériles y mascarillas.
10. Las cortaduras o rasguños en las manos y brazos deben protegerse bien.
11. Utilizar zapatos protectores que cubran completamente los pies (no usar sandalias o zapatos abiertos).
12. El procesamiento de las muestras debe realizarse sobre una superficie de trabajo cubierta con papel absorbente plastificado o papel de filtro.
13. Las superficies de trabajo deben ser descontaminadas por el operador antes y después de cada actividad.
14. Los reactivos deben estar etiquetados y almacenados en viales adecuados con tapa rosca.
15. Todos los laboratorios deben tener a disposición un equipo de primeros auxilios.
16. Informar inmediatamente cualquier accidente al jefe de laboratorio.
17. Debe disponer de un lugar para el lavado de ojos en caso de exposición accidental a salpicaduras.
18. Todos los desechos del laboratorio deben descontaminarse adecuadamente, antes de eliminarlos en solución desinfectante o ser auto clavado a 121 ° C durante 20 minutos, o incinerarse.
19. El material infeccioso debe ser fácilmente identificado como tal y ser esterilizado lo antes posible.
20. Limpiar a diario los pisos con un trapeador limpio y solución desinfectante.

## ANEXO 16. CONSTANCIA DE EJECUCION DE PROYECTO (PARTE EXPERIMENTAL)




**Laboratorios MEDILAB**  
EXAMENES BIOQUÍMICOS, HEMATOLOGÍAS, INMUNOLÓGICOS, MICROBIOLÓGICOS,  
HORMONALES, MARCADORES TUMORALES Y INMUNOLOGÍA ESPECIALIZADA.

### CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El laboratorio "MEDILAB" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde los bachilleres de Tecnología Médica de la Universidad Nacional de Jaén: Marcos Coronel Tapia con DNI 45084239 y Elzer Berru Flores con DNI 76156493, ejecutaron la parte experimental de su proyecto de tesis titulado: "EFECTO ANTICOAGULANTE *in-vitro* DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Allium sativum* L." "Ajo" SOBRE LA CASCADA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA, los días 05 de junio hasta 09 de junio del 2019, bajo la Orientación del Lic. T.M. César Samuel Medina Tasillo.

Se expide la presente a solicitud de los interesados, para fines académicos a los 20 días del mes de julio del 2019.

  
César S. Medina Tasillo  
Tecnólogo Médico  
Especialidad de Laboratorio Clínico  
y Anatomía Patológica  
CTNP 0542

Lic. T.M Cesar S. Medina Tasillo

**CALLE: MARAÑÓN N° 1499 - JAÉN - CAJAMARCA - CEL. 949483547**